

A szemikarbazidszenzitív aminoxidáz aktivitásának lehetséges szerepe a diabeteses retinopathia kialakulásában

Dura Eszter

A réztartalmú aminoxidázok közé tartozó szemikarbazidszenzitív aminoxidáz (SSAO) enzim monoamin vegyületek oxidatív deaminációját katalizálja, amelynek során citotoxikus hatású aldehidek, valamint hidrogén-peroxid és ammónia keletkeznek. A szervezet számos szövetében és a szérumban is megtalálható SSAO enzim aktivitása mindkét diabestípusban emelkedett. Korábbi klinikai vizsgálatunkban igazoltuk az SSAO-szérumaktivitás emelkedését 2-es típusú diabeteses betegekben, különösen nagy rizikójú, proliferatív stádiumú diabeteses retinopathiában. Adataink alátámasztották a feltételezést, amely szerint az emelkedett SSAO-szérumaktivitás okozhatja a cukorbetegségben kialakuló endothelkárosodást és a szemfenéki elváltozásokat. A kisérkárosodást okozó folyamat egyik valószínű mechanizmusa a keringésben található endogén monoaminok (metil-amin, amino-aceton) enzimatis konverziója toxikus aldehidekké és hidrogén-peroxidá. Másrészt a molekula vascularis adhéziós protein-1 (VAP-1) funkciója a fokozott endothel-leukocita adhézió keresztül leukostasist és leukocitaaktivációt okozhat, a kapilláriskeringés romlását és hypoxiát eredményezve. A 2-es típusú cukorbetegségben az SSAO szérumszintje és a nagy rizikójú proliferatív retinopathia között tapasztalt összefüggés jelentőségének tisztázására még további, több diabeteses betegen végzett prospektív vizsgálatok szükségesek. Az enzimaktivitás szelektív gyógyszeres befolyásolása új szempont lehet a diabeteses retinopathia megelőzésében és gyógyításában.

**szemikarbazidszenzitív aminoxidáz (SSAO),
diabeteses retinopathia,
microangiopathia,
2-es típusú cukorbetegség**

THE POTENTIAL ROLE OF THE SEMICARBAZIDE-SENSITIVE AMINE OXIDASE ACTIVITY IN THE DEVELOPMENT OF DIABETIC RETINOPATHY

Recent data suggest that the copper-containing semicarbazide-sensitive amine oxidase enzyme (SSAO) may play a role in vascular endothelial damage through conversion of certain endogenous monoamines, such as methylamine, into cytotoxic aldehydes, hydrogen peroxide and ammonia. SSAO is present in various human tissues and in the serum. Elevated SSAO activities have been reported in patients with both types of diabetes mellitus. We have demonstrated that the activity of serum SSAO is significantly higher in type 2 diabetic patients with high-risk proliferative diabetic retinopathy compared to those without retinopathy. Our clinical results support the hypothesis that elevated SSAO activity may be involved in the pathogenesis of microvascular diabetic late complications, such as retinopathy. The enzymatic conversion of the endogenous monoamines (e.g. methylamine, aminoacetone) into toxic aldehydes and hydrogen-peroxide may be one of the possible mechanisms of the development of microangiopathy. Also, the vascular adhesion protein-1 (VAP-1) function of the molecule can cause leukostasis and leukocyte activation through increased leukocyte adhesion, resulting in worsening of the capillary circulation and hypoxia. Further prospective, larger studies are needed to elucidate the role of the possible association between serum SSAO activity and high-risk proliferative retinopathy in patients with type 2 diabetes. The pharmacological manipulation of SSAO activity might be an interesting new concept for prevention and treatment of diabetic retinopathy.

**semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO),
diabetic retinopathy,
microvascular complications,
type 2 diabetes mellitus**

dr. Dura Eszter (levelezési cím/correspondence): Sopron Megyei Jogú Város Erzsébet Kórház,
Szemészet/Erzsébet Hospital Sopron, Ophthalmology;
H-9400 Sopron, Győri út 15. E-mail: drduraeszter@yahoo.com

Érkezett: 2005. október 12. Elfogadva: 2006. április 4.

A cukorbetegséget kísérő diabeteses retinopathia gyakori microvascularis szövődmény, az életminőséget jelentősen ronthatja, emiatt napjaink komoly népegészségügyi problémáját jelenti az iparilag fejlett, illetve közepesen fejlett társadalmakban. A diabeteses retinopathia a munkaképes korú, 20–55 év közötti lakosság körében a megelőzhető vakság fő oka. Megfelelő kezelés nélkül az esetek nagy részében – a nonproliferatív, majd proliferatív stádiumon át – teljes vaksághoz vezet.

A dolgozat célja a praktizáló orvos informálása a diabeteses retinopathia patomechanizmusának egy lehetséges új megközelítéséről, összefoglalva a jelenleg ismert rizikótényezőket, a patológiai folyamatokat és a terápiás lehetőségeket.

A diabeteses retinopathia rizikótényezői

Nagyszámú betegen végzett prospektív tanulmányok (DCCT, UKPDS) tapasztalatai szerint a diabetes mellitus időtartama és a hyperglykaemia a microangiopathiás szövődmények, így a retinopathia legfontosabb rizikótényezői mind az 1-es, mind a 2-es típusú diabetesben (1, 2). Közel 78%-ban alakul ki valamilyen fokú diabeteses retinopathia 2-es típusú cukorbetegekben 15 év betegségstartam után (3). Ugyanakkor a fokozatos és gyakran tünetmentes kezdet miatt az általában nonproliferatív stádiumú diabeteses retinopathia az újonnan felfedezett esetek 18–39%-ában már jelen lehet (4). Előfordulhat, hogy a szemfenéki kép alapján a szemorvos diagnosztizálja először a cukorbetegséget látásromlás vagy más okból végzett vizsgálat kapcsán.

A nem megfelelő szénhidrátanyagcsere-viszonyok mellett számos egyéb, potenciálisan befolyásolható rizikófaktor is szerepet játszhat a diabeteses retinopathia kialakulásában és progressziójában, többek között a magasabb szisztolés és diasztolés vérnyomás, az emelkedett plazmatriglicerid-szint (3–5). A diabeteses angiopathiára, így a retinopathiára való fogékonyság kialakulásában genetikai faktorok is meghatározóak lehetnek. A felsorolt tényezők azonban a diabeteses retinopathia számos és sokszínű klinikai megjelenési formáinak csak egy részét magyarázzák.

A diabeteses retinopathia patogeneze

Bár a szemtükörrel látható elváltozások jól definiáltak, a kialakulásukhoz vezető tényezők még mindig nem teljes mértékben ismertek. A diabeteses retinopathia patomechanizmusában biokémiai (a retina magas oxigénfelvétele, fokozott glükózoxidációja), hemodina-

RÖVIDÍTÉSEK

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial.
ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinopathy Research Study Group.
HbA_{1c}: glikált hemoglobin.
ICAM-1: intercelluláris sejtheadhéziós molekula-1.
IFN γ : interferon-gamma.
IL: interleukin.
LDL: low density lipoprotein.
RAO: retinaspecifikus aminoszénhidrogén-oxidáz.
SSAO: szemikarbazidszenzitív aminoszénhidrogén-oxidáz.
TNF α : tumornekrózis-faktor- α .
UKPDS: United Kingdom Prospective Diabetes Study.
VAP-1: vascularis adhéziós protein-1.
VCAM-1: vascularis sejtheadhéziós molekula-1.

mikai (fokozott vérviszkozitás, fokozott thrombocytaaggregáció, károsodott fibrinolízis), valamint endokrin tényezők (hormonok, növekedési faktorok) egyaránt szerepelnek. A biokémiai változások – elsősorban a hosszan fennálló hyperglykaemia – strukturális és funkcionális eltérésekhez vezetnek: korai, nonproliferatív diabeteses retinopathia alakul ki. További károsodások a proliferációt elősegítő, illetve gátló endokrin faktorok egyensúlyának felborulását okozzák, ami érújdonképződéshez vezet az ischaemiás retinában. Az érdeklődés középpontjában jelenleg – a krónikus hyperglykaemiára visszavezethető számos patomechanizmus mellett – a retinopathia kialakulásának molekuláris folyamatai, a növekedési faktorok, köztük a vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF), a hepatocytá növekedési faktor (HGF), a transzformáló növekedési faktor β (TGF β), illetve jelátviteli rendszereik állnak (6–9).

A multifunkcionális molekula: a szemikarbazidszenzitív aminoszénhidrogén-oxidáz

A szemikarbazidszenzitív aminoszénhidrogén-oxidáz elnevezés (enzim-nevezéktani kódja SSAO; EC 1.4.3.6) több homológ enzimet jelöl az aminoszénhidrogén-oxidáz enzimek családjában belül. Az enzimescsoport közös vonása, hogy kofaktorként rezet tartalmaznak, érzékenyek a szemikarbaziddal és egyéb, úgynevezett karbonilreagensekkel való gátlásra (10). A dolgozatban az enzimescsoportot összefoglalóan SSAO néven említjük.

Az enzim az emlőállatok és az emberi szervezet számos szövetségében megtalálható, elsősorban az érfal simaizomsejtjei és több más sejt típus (például zsíresejt, retina-ganglionsejt) plazmamembránja tartalmazza. Szolubilis SSAO-aktivitás a szérumban is kimutatható (11, 12). Egymástól függetlenül végzett kutatások azonosnak találták a szérumban SSAO-enzim génszekvenciáját (a 17. kromoszóma q21-es régióján) és glikoproteinstruktúráját (két azonos alegység, amelyben egy

A cukorbetegséget kísérő diabeteses retinopathia napjaink komoly népegészségügyi problémája.

kezdeti rövid N-terminális citoplazmatikus domén után egy transzmembrán szakasz következik, majd egy nagyobb extracelluláris domén, amely tartalmazza a katalitikus helyet, valamint egy réziont) a vascularis adhéziós protein-1 (VAP-1) szerkezetével (13, 14). A VAP-1 szelektív nem igénylő multifunkcionális adhéziós molekula, amely a leukocyták (elsősorban CD8+ lymphocyták és a természetes ölüsejtek) endothelhez való kitapadását és a szerkezeten belüli közlekedését segíti.

Az SSAO enzim által katalizált oxidatív deamináció során monoamin vegyületekből (például metil-aminból, amino-acetonból) aldehidek, hidrogén-peroxid és ammónia keletkeznek (1. ábra). Endothelsejt-tenyésztésben, egyidejű metil-amin- és SSAO-expozíció után jellegzetes morfológiai változások észlelhetők: a pseudopódiumok eltűnése, vakuolizáció és sejtsugorodás (15).

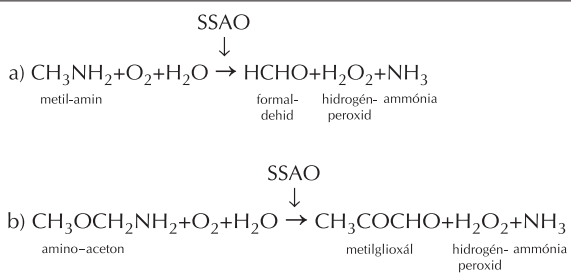
Az SSAO pontos *életteni szerepe* még nem ismert minden részletében. A jelenleg is intenzíven folyó kutatások a multifunkcionális protein egyre több fiziológiai hatására derítenek fényt a szervezetben. *Aminoxidáz enzimként* részt vesz a keringő biogén aminok (így a metil-amin, amino-aceton, hisztamin, kreatin, adrenalin, szarkozin) lebontásában és védelmet nyújt a különböző exogén monoamin vegyületek káros hatása ellen (scavenger funkció) (15). Az SSAO enzim szabályozószerepet tölthet be a simaizomsejtek (16) és a zsírsejtek (17) differenciálódásában, valamint a kötőszöveti mátrix kialakulásában és szerkezetének fenntartásában, különösen az elasztin szintézisében (18).

Az SSAO enzimsaládba tartozó humán retina-specifikus aminoxidáz (RAO) expressziója a retina ganglionsejtjeiben kifejezett. Az enzim génszekvenciája 59%-ban egyezik meg a szarvasmarha szérumsSAO-t kódoló génszakaszával (11, 19). Szöveti SSAO-aktivitást az emlőállatok szemgolyójának különböző szöveteiben is kimutattak, így az mérhető volt szarvasmarhák retinájában, chorioideájában, irisében és nervus opticusában, de nem volt kimutatható a szemlencsében (20). A patkányortaiban talált mennyiséghez képest viszonylag alacsony, de nem elhanyagolható mértékű SSAO-aktivitás mutatható ki patkányokban a sclerában és a retinában (12, 21).

Az SSAO *patofiziológiai folyamatokban* játszott szerepe sem tisztázott még minden vonatkozásában. Emelkedett SSAO-szérumaktivitást mutattak ki diabeteses kísérleti állatokban (22, 23), 1-es és 2-es típusú cukorbetegségben (24, 25), krónikus pangásos szívelégtelenségben (26) és krónikus májbetegségben szenvedő betegekben (27). Feltételezések szerint a fokozott SSAO-aktivitás során keletkező toxikus reakciótermékek endothelkárosító hatása szerepet játszhat a krónikus érszövődmények kialakulásában. Az SSAO emelkedett szérumaktivitásának eredete még nem ismert pontosan. Valószínűleg a szövetekben található SSAO enzim szabadul ki a plazmamembránból és jut a vérkeringésbe a sejtek károsodása után. Ugyanígy feltételezhető, hogy a fokozott szubsztatrát-kínálat (például diabetesben a magasabb metil-amin-szint) enzim-

1. ÁBRA

A szemikarbazidszenzitív aminoxidáz által katalizált oxidatív deamináció a) metil-amin-, b) amino-aceton-szubsztatrát jelenlétében. A reakció során toxikus hatású aldehid, hidrogén-peroxid és ammónia keletkezik



indukciót okozhat (28). Még további bizonyítást kíván, hogy a szérumban feltételezhetően jelen levő endogén SSAO-inhibitor mennyiségének csökkenése vezetne az SSAO fokozott aktivitásához (29).

Az enzim aktivitása diabeteses retinopathiában

Diabeteses retinopathiában szenvedő 1-es és 2-es típusú cukorbetegekben is magasabb SSAO-szintek mérhetők (30, 31). Az azonban nem volt egyértelműen tisztázott, hogy vajon az SSAO szérumaktivitása különbözik-e a diabeteses retinopathia különböző súlyossági stádiumaiban. Saját klinikai vizsgálatunk során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a szemikarbazidszenzitív aminoxidáz emelkedett szérumaktivitása közvetlen szerepet játszhat-e a diabeteses retinopathia kialakulásában. Vizsgálatunk célja az SSAO-szérumaktivitás meghatározása volt 2-es típusú, különböző súlyossági fokú diabeteses retinopathiában szenvedő cukorbetegekben (n=93, 46 férfi, 47 nő; életkor: 42–85 év, átlagéletkor: 66,5±10 év), valamint egészséges kontrollszemélyekben (n=42, 21 férfi, 21 nő; életkor: 24–74, átlagéletkor: 50,4±14,7 év), keresve az SSAO aktivitása és a diabeteses retinopathia klinikai formái közötti lehetséges összefüggést (32). Eredményeink megerősítették, hogy a szemikarbazidszenzitív aminoxidáz szérumaktivitása fokozottabb 2-es típusú cukorbetegekben (24, 25, 30, 31).

Az összesített SSAO-értékeket tekintve, 2-es típusú diabeteses betegek között SSAO szérumaktivitása átlagosan 47%-kal haladta meg az egészséges kontrollszemélyek aktivitásértékeit (p<0,0001). Kimutattuk, hogy az SSAO-szérumaktivitás szignifikánsan magasabb a proliferatív diabeteses retinopathia előrehaladottabb, nagy rizikójú stádiumában (n=16), mint a diabeteses retinopathia nélküli diabeteses betegekben (n=42) (p<0,02). A retinopathia stádiuma szerinti betegcsoportok eredményeit elemezve azonban

Az enzim védelmet nyújt a különböző exogén monoamin vegyületek káros hatása ellen.

nem tudtunk közvetlen összefüggést igazolni a retinopathia súlyossága és a SSAO szérumaktivitása között.

A fokozott enzimaktivitás során keletkező toxikus reakciótermékek károsítják az endothelt.

Az SSAO-aktivitás és diabeteses retinopathia kapcsolatának tisztázására eddig mindössze néhány, kis esetszámú tanulmány készült. *Boomsma* és munkatársai 1-es típusú diabetesben mutatták ki, hogy azokban a betegekben (n=104), akikben retinopathia vagy nephropathia, illetve mindkettő diagnosztizálható, a plazma SSAO-aktivitása magasabb a szövődménymentes esetekhez képest, és pozitívan korrelál a plazma glikált hemoglobinszintjével.

A retinopathiás betegek csoportjain belül azonban a tanulmány nem tett további különbséget a retinopathia stádiumai szerint (24). *Garpenstrand* és munkatársai 2-es típusú cukorbetegségben (n=65) szintén emelkedett SSAO-aktivitást mutattak ki. Nonproliferatív stádiumú retinopathiás betegekben (n=26) magasabb enzimkoncentrációt találtak a retinopathia nélküli esetekhez viszonyítva (n=39) (p=0,012) (30). A betegek (n=34) 2,8 éves követése során az SSAO-aktivitás szintje az első vizsgálatkor és a követési idő végén egyaránt és azonos mértékben volt magasabb a retinopathiában szenvedők esetében (n=13), mint a diabeteses retinopathia nélküli esetekben (n=21). A retinopathia egyik betegben sem súlyosbodott a proliferatív stádiumig az eltelt idő alatt (31).

Az enzim és a diabeteses retinopathia lehetséges kapcsolata

Az érszövődmények kialakulásáért elsősorban az angiotoxikus enzimtermékek, valamint az SSAO enzim, illetve a VAP-1 molekula sejtadhéziós tulajdonsága tehető felelőssé. A diabeteses retinopathia szerteágazó, sok szálon futó folyamatrendszerét az SSAO enzim több ponton is érintheti:

A diabeteses microvasculáris szövődmények patogenezisében kialakuló káros körök megszakítása egyidejűleg több ponton szükséges.

1. A diabeteses szervezetben (valamely eddig még nem ismert ok miatt) felerősödött SSAO-aktivitás angiotoxikus végtermékeket generál (*hidrogénperoxid, formaldehid, metilglioxál*), amelyek a retinapillák endothel-jének károsodását okozzák (12). A formaldehid és a metilglioxál is elősegíti a fehérjék nem enzimátikus glikációját során képződő késői glikációs végtermékek kialakulását. Ennek következtében a kapillárispermeabilitás

fokozódik és megvastagszik a bazálmembrán (33). A keletkező szabad gyökök oxidatív stresszhez vezetnek a lipidperoxidáció indukálásán keresztül, DNS-károsodást, a fehérjék struktúra- és funkcióváltozását okozva.

2. Az enzim VAP-1 tulajdonságának eredményeként

létrejövő fokozott leukocytá-endothel tapadákonyság a sejtek kapcsolódását követő sejtaktivációhoz, gyulladássos mediátorok, vazóaktív anyagok, növekedési faktorok, citokinek felszabadulásához vezet (34). A VAP-1/SSAO molekula fokozott endothelialis expresszióját pozitív visszacsatolás során előidézhetik citokinek (IL-1, IL-4, TNF α , IFN γ), késői glikációs végtermékek és az oxidált LDL is (13). A sejtadhéziós molekulák, így a VAP-1, az intercelluláris sejtadhéziós molekula-1 (ICAM-1), a vasculáris sejtadhéziós molekula-1 (VCAM-1) elősegítik a keringő leukocyták lehorgonyzását a kapillárisokban az endothelsérülés helyén. A leukocyták nagy tömege átmeneti, majd krónikus leukostasishoz vezet (34). A kapilláris keringés romlása a perfúzió helyi leállításához és következményes hypoxiához vezet. A folyamat végeredménye a pericyták és az endothelsejtek pusztulása. A vasculáris endothelialis növekedési faktor (VEGF) hypoxia okozta fokozott expressziója érújdonképződéshez vezet, amelynek során azonban kevésbé funkcióképes erek keletkeznek (6). Az önmagát erősítő folyamat eredményeképpen további fokozott sejtaktiváció, a gyulladássos mediátorok felszabadulása és sejtproliferáció jön létre.

3. Az SSAO enzim kofaktora, a rézion elősegíti az endothelsejtekben az LDL-molekula oxidációját (35).

A diabetes microvasculáris szövődményeinek terápiás lehetőségei

Nemcsak magának a diabetesnek, hanem késői szövődményeinek is legbiztosabb megelőzési lehetősége a fiziológiai állapotok minél jobb megközelítése, illetve lehetőség szerinti helyreállítása. Életmódbeli változások, megfelelő diéta és fizikai aktivitás a cukorbetegség kezelésének alappillérei. A különböző támadáspontú gyógyszeres terápiás lehetőségeket ezt kiegészíthetik, a fiziológiai folyamatok megtartását elősegíthetik. A szoros anyagcserekontroll mindkét diabetes-típusban bizonyítottan csökkenti a diabeteses microvasculáris szövődmények előfordulását (1, 2). A szisztolés és diasztolés vérnyomás, a szérumlipidek szintjének hosszú távú normalizálása a macrovasculáris szövődmények kockázatát, a cardiovascularis mortalitást is csökkenti (5). A hemoreológiai paraméterek egyensúlyban tartása, az anaemia rendezése, fokozott trombózishajlam csökkentése is kiemelt fontosságú a diabetes mellitus kezelésének komplex szemléletében (36).

A több irányban zajló farmakológiai kutatások egyes vegyületek, például az acetilszalicilsav vagy a kalciumdobezilát előnyös hemoreológiai hatásait már bizonyították, ennek ellenére nem alkalmazzák őket a betegek széles körében (37). Más szerek hatása humán vizsgálatokban nem bizonyult meggyőzőnek, az aldószteroidok enzimet gátló sorbinil nem váltotta be a hozzá fűzött reményeket (38, 39). A növekedési faktorok érújdonképződést generáló hatását gátló vegyületek alkalmazása jelenleg már a klinikai kipróbálás stádiumában van.

A diabeteses microvascularis szövődmények, így a retinopathia patogenezisében kialakuló kóros körök megszakítása egyidejűleg több ponton szükséges. A figyelem középpontjában ezért jelenleg olyan vegyületek állnak, amelyek több támadásponttal is rendelkeznek a retinopathia kórfolyamatában. Az *aminoguanidin* nukleofil hidrazinszármazék ilyen több támadáspontú molekula. A toxikus aldehidekkel reakcióba lépve hatóan akadályozza meg a nem enzimátikus glikáció végtermékeinek kialakulását (33). Ezenkívül az aminoguanidin *in vivo* és *in vitro* egyaránt irreverzibilisen gátolja az SSAO-aktivitást (28) és a nitrogén-monoxid-szintézist (40). Diabeteses kísérleti állatokban az aminoguanidin meggátolta a kísérletes retinopathia (41) és a nephropathia (42) kialakulását. A szelektív SSAO-inhibitorok kifejlesztése, gyógyszerként való alkalmazása ezért ígéretes perspektívát jelenthet az enzim okozta sejtkárosító hatások megakadályozásában, kivédésében (10, 43).

Összegzés

Korábbi klinikai vizsgálati eredményeink is megerősítették, hogy a 2-es típusú diabeteses betegek esetében, különösen nagy rizikójú diabeteses retinopathiában a szérumszintje emelkedett. Adataink alátámasztják azt a feltételezést, hogy diabetesben a szérumszintje emelkedett.

fokozott SSAO-aktivitása szerepet játszhat az endothelkárosodás és a szemfenéki elváltozások kialakulásában. A kisértkárosodást okozó folyamat egyik valószínű mechanizmusa a keringésben található endogén monoaminok enzimátikus konverziója toxikus aldehidekké és hidrogénperoxidá, másrészt a molekula VAP-1-funkciója a fokozott endothel-leukocita adhézió keresztül leukostasis és leukocytaktivációt okoz a kapilláris keringés romlását és hypoxiát eredményezve. A 2-es típusú diabetesben az SSAO szérumszintje és a nagy rizikójú proliferatív diabeteses retinopathia között tapasztalt összefüggés jelentőségének tisztázására még további, nagyobb számú diabeteses betegen végzett prospektív vizsgálatok szükségesek.

Feltételezve, hogy az általunk is igazolt, fokozott SSAO-aktivitás kóros tényező a diabeteses retinopathia létrejöttében, hatékony és specifikus enzim-inhibitorok kifejlesztése lehetővé tenné a szövetek és sejtek védelmét a toxikus hatások okozta sérüléstől. Az enzimaktivitás szelektív farmakológiai befolyásolása egyszerre több támadásponton ható, új koncepciójú terápiás eszköz lehet a microvascularis diabeteses szövődmények megelőzésében és kezelésében.

Az enzimaktivitás szelektív farmakológiai befolyásolása több támadásponton ható, új koncepciójú terápiás eszköz lehet.

IRODALOM

1. *The Diabetes Control and Complications Trial Research Group.* The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977-86.
2. *UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group.* Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837-53.
3. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Arch Ophthalmol* 1984;102:527-32.
4. Kohner EM, Aldington SJ, Stratton IM, Manley SE, Holman RR, Matthews DR, et al. United Kingdom Prospective Diabetes Study, 30. Diabetic retinopathy at diagnosis of non-insulin-dependent diabetes mellitus and associated risk factors. *Arch Ophthalmol* 1998;116:297-303.
5. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report #18. Davis MD, Fisher MR, Gangnon RE, Barton F, Aiello LM, Chew EY, Ferris FL, Knatterud GL. Risk factors for high-risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:233-52.
6. Aiello LP, Cahill MT, Cavallerano JD. Growth factors and protein kinase C inhibitors as novel therapies for the medical management of diabetic retinopathy. *Eye* 2004;18:117-25.
7. Cai W, Rook SL, Jiang ZY, Takahara N, Aiello LP. Mechanisms of hepatocyte growth factor-induced retinal endothelial cell migration and growth. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1885-93.
8. Pascal MM, Forrester JV, Knott RM. Glucose-mediated regulation of transforming growth factor-beta (TGF-beta) and TGF-beta receptors in human retinal endothelial cells. *Curr Eye Res* 1999;19:162-70.
9. Yamagishi SI, Amano S, Inagaki Y, Okamoto T, Koga K, Sasaki N, et al. Advanced glycation end products-induced apoptosis and overexpression of vascular endothelial growth factor in bovine retinal pericytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;290:973-8.
10. Yu PH, Zuo DM. Inhibition of a type B monoamine oxidase inhibitor, (E)-2-(4-fluorophenethyl)-3-fluoroallylamine (MDL-72974A), on semicarbazide-sensitive amine oxidases isolated from vascular tissues and sera of different species. *Biochem Pharm* 1992;43:307-12.
11. Imamura Y, Kubota R, Wang Y, Asakawa S, Kudoh J, Mashima Y, et al. Human retina-specific amine oxidase (RAO): cDNA cloning, tissue expression, and chromosomal mapping. *Genomics* 1997;40:277-83.
12. Zuo DM, Yu PH. Semicarbazide-sensitive amine oxidase and monoamine oxidase in rat brain microvessels, meninges, retina and eye sclera. *Brain Res Bull* 1994;33:307-11.
13. Smith DJ, Salmi M, Bono P, Hellman J, Leu T, Jalkanen S. Cloning of vascular adhesion protein 1 reveals a novel multifunctional adhesion molecule. *J Exp Med* 1998;188:17-27.
14. Zhang X, McIntire S. Cloning and sequencing of a copper-containing, topa quinone-containing monoamine oxidase from human placenta. *Gene* 1996;179:279-86.
15. Yu PH, Zuo DM. Oxidative deamination of methylamine by semicarbazide-sensitive amine oxidase leads to cytotoxic damage in endothelial cells. Possible consequences for diabetes. *Diabetes* 1993;42:594-603.
16. El Hadri K, Moldes M, Mercier N, Andreani M, Pairault J, Feve B. Semicarbazide-sensitive amine oxidase in vascular smooth muscle cells: differentiation-dependent expression and role in glucose uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:89-94.
17. Fontana E, Boucher J, Marti L, Lizcano JM, Testar X, Zorzano A, et al. Amine oxidase substrates mimic several of the insulin effects on adipocyte differentiation in 3T3 F442A cells. *Biochem J* 2001;356:769-77.
18. Langford SD, Trent MB, Balakumaran A, Boor PJ. Developmental vasculotoxicity associated with inhibition of semicarbazide-sensitive amine oxidase. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;155:237-44.
19. Hamada Y, Nakashima E, Naruse K, Nakae M, Naiki M, Fujisawa H, et al. A copper chelating agent suppresses carbonyl stress in diabetic rat lenses. *J Diabetes Complications*. 2005;19:328-34.

20. Fernández de Arriba A, Lizcano JM, Balsa D, Unzeta M. Contribution of different amine oxidases to the metabolism of dopamine in bovine retina. *Biochem Pharmacol* 1991;42:2355-61.
21. Danh CH, Strolin-Bendetti M, Doster P, Musset A. Age-related changes in the amine metabolizing enzymes in rat eye. *J Pharm Pharmacol* 1985;37:357-61.
22. Elliott J, Fowden AL, Callingham BA, Sharman DF, Silver M. Physiological and pathological influences on sheep blood plasma amine oxidase: effect of pregnancy and experimental alloxan-induced diabetes mellitus. *Res Vet Science* 1991;50:334-9.
23. Hayes BE, Clarke DE. Semicarbazide-sensitive amine oxidase activity in streptozotocin diabetic rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1990;69:71-83.
24. Boomsma F, van den Meiracker AH, Winkel S, Aanstoot HJ, Batstra MR, Man in 't Veld AJ, et al. Circulating semicarbazide-sensitive amine oxidase is raised both in type I (insulin-dependent), in type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and even in childhood type I diabetes at first clinical diagnosis. *Diabetologia* 1999;42:233-7.
25. Mészáros Z, Szombathy T, Riamondi L, Karádi I, Romics L, Magyar K. Elevated serum semicarbazide-sensitive amine oxidase activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus: correlation with BMI and serum triglyceride. *Metabolism* 1999;48:113-7.
26. Boomsma F, van Veldhuisen DJ, de Kam PJ, Man in 't Veld AJ, Mosterd ASO. Plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase is elevated in patients with congestive heart failure. *Cardiovasc Res* 1997;33:387-91.
27. Kurkijärvi R, Yegutkin GG, Gunson BK, Jalkanen S, Salmi M, Adams DH. Circulating soluble vascular adhesion protein 1 accounts for the increased serum monoamine oxidase activity in chronic liver disease. *Gastroenterology* 2000;119:1096-103.
28. Yu PH, Zuo DM. Aminoguanidine inhibits semicarbazide-sensitive amine oxidase activity implications for advanced glycation and diabetic complications. *Diabetologia* 1997;40:1243-50.
29. Obata T, Yamanaka Y. Evidence for existence of immobilization stress-inducible semicarbazide-sensitive amine oxidase inhibitor in rat brain cytosol. *Neurosci Lett* 2000;296:58-60.
30. Garpenstrand H, Ekblom J, Bäcklund LB, Orelund L, Rosenqvist U. Elevated plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity in type 2 diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Diabetic Medicine* 1999;16:514-21.
31. Grönvall-Nordquist JL, Bäcklund LB, Garpenstrand H, Ekblom J, Landin B, Yu PH, et al. Follow-up of plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase activity and retinopathy in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2001;15:250-56.
32. Dura E, Mészáros Zs, Salacz Gy, Magyar K, Romics L, Karádi I. A szérumban szemikarbazid-szenzitív amin-oxidáz enzim aktivitásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegség talaján kialakult diabeteses retinopathiában szenvedőkben. *Orv Hetil* 2002;47:2637-44.
33. Vlassara H, Palace MR. Diabetes and advanced glycation end-products. *J Intern Med* 2002;251:87-101.
34. Schröder S, Palinski W, Schmid-Schönbein GW. Activated monocytes and granulocytes, capillary nonperfusion, and neovascularization in diabetic retinopathy. *Am J Pathol* 1991;139:81-100.
35. Exner M, Hermann M, Hofbauer R, Kapiotis S, Quehenberger P, Speiser W, et al. Semicarbazide-sensitive amine oxidase catalyzes endothelial cell-mediated low density lipoprotein oxidation. *Cardiovasc Res* 2001;50:583-88.
36. Vékási J, Márton Zs, Késmárky G, Cser A, Russai R, Kovács B. Haemorheológiai faktorok vizsgálata hypertóniás és diabeteses retinopathiában. *Orv Hetil* 2001;142:1045-8.
37. Szabó ME, Haines D, Garay E, Chiavaroli C, Farine JC, Hannaert P, et al. Antioxidant properties of calcium dobesilate in ischemic/reperfused diabetic rat retina. *Eur J Pharmacol* 2001;428:277-86.
38. Dagher Z, Park YS, Asnaghi V, Hoehn T, Gerhardinger C, Lorenzi M. Studies of rat and human retinas predict a role for the polyol pathway in human diabetic retinopathy. *Diabetes* 2004;53:2404-11.
39. Sorbinil Retinopathy Trial Research Group. A randomized trial of sorbinil, an aldose reductase inhibitor, in diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1990;108:1234-44.
40. Souliis T, Cooper ME, Sastra S, Thallas V, Panagiotopoulos S, Bjerrum OJ, et al. Relative contributions of advanced glycation and nitric oxide synthase inhibition to aminoguanidine-mediated renoprotection in diabetic rats. *Diabetologia* 1997;40:1141-51.
41. Hammes HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:11555-8.
42. Souliis-Liparota T, Cooper ME, Dunlop M, Jerums G. The relative roles of advanced glycation, oxidation and aldose reductase inhibition in the development of experimental diabetic nephropathy in the Sprague-Dawley rat. *Diabetologia* 1995;38:387-94.
43. Kinemuchi H, Kobayashi N, Takahashi K, Takayanagi K, Arai Y, Tadano T, et al. Inhibition of tissue-bound semicarbazide-sensitive amine oxidase by two haloamines, 2-bromoethylamine and 3-bromopropylamine. *Arch Biochem Biophys* 2001;385:154-61.